

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-119194

(43)Date of publication of application : 25.04.2000

(51)Int.Cl.

A61K 38/17
A61P 17/02
A61P 43/00

(21)Application number : 10-295279

(71)Applicant : YANAGA HIROKO
AVENTIS PHARMA LTD

(22)Date of filing : 16.10.1998

(72)Inventor : YANAGA HIROKO

(54) CYTOKINE PRODUCTION ACCELERATOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a substance accelerating production of cytokine and safely administrable to an organism.

SOLUTION: This cytokine production accelerator comprising fibrin is usable as a curing agent for wholly apellous wound. As an example of the cytokine, TGF- α or TGF- β is exemplified.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-119194

(P2000-119194A)

(43) 公開日 平成12年4月25日 (2000. 4. 25)

| (51) Int.Cl. | 識別記号 | F I | テーマコード (参考) |
|--------------|-------|---------------|-------------|
| A 6 1 K | 38/17 | A 6 1 K 37/12 | 4 C 0 8 4 |
| A 6 1 P | 17/02 | 31/00 | 6 1 7 C |
| | 43/00 | | 6 4 3 D |

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 4 頁)

| | | | |
|-----------|----------------------------|-----------|--|
| (21) 出願番号 | 特願平10-295279 | (71) 出願人 | 598142933 矢永 博子 福岡県久留米市中央町16番地30 センチュ リー中央105 |
| (22) 出願日 | 平成10年10月16日 (1998. 10. 16) | (71) 出願人 | 596124690 アベンティス ファーマ株式会社 東京都港区赤坂二丁目17番51号 |
| | | (72) 発明者 | 矢永 博子 福岡県久留米市中央町16番地30 センチュ リー中央105 |
| | | (74) 代理人 | 100091731 弁理士 高木 千嘉 (外1名) |
| | | Fターム (参考) | 4C084 AA02 BA44 DC11 MA63 NA14 ZA892 |

(54) 【発明の名称】 サイトカイン産生促進剤

(57) 【要約】

【課題】 サイトカインの産生を促進し、生体に安全に投与できる物質を提供することを目的とする。

【解決手段】 フィブリンからなるサイトカイン産生促進剤によって上記目的が達成される。上記サイトカイン産生促進剤は全層皮膚欠損創の治療剤として使用することができる。サイトカインの例としては、TGF- α またはTGF- β があげられる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フィブリンからなるサイトカイン産生促進剤。

【請求項2】 サイトカインがTGF- α および/またはTGF- β である請求項1のサイトカイン産生促進剤。

【請求項3】 請求項1に記載のサイトカイン産生促進剤からなる全層皮膚欠損創治療剤。

【請求項4】 皮膚・軟部組織の悪性腫瘍の切除によってできた全層皮膚欠損創に適用するための請求項3に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

【請求項5】 深部熱傷によってできた全層皮膚欠損創に適用するための請求項3に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

【請求項6】 外傷によってできた全層皮膚欠損創に適用するための請求項3に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、フィブリンからなるサイトカイン産生剤促進剤に関する。さらに本発明は、上記サイトカイン産生剤促進剤からなる全層皮膚欠損創治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】サイトカインは、種々の細胞から分泌される生理活性をもつ高分子ペプチドで、抗体のような特異性をもたないものの総称である。サイトカインは、生体内で免疫、炎症、造血機構に関与し、その多くは、直接的あるいは間接的に感染や腫瘍に対する生体防衛機構において重要な役割をもつことが明らかになっている（サイトカイン94-基礎から最新情報まで、1994年、1~9頁、株式会社日本医学館発行）。

【0003】他方、フィブリンゲンは凝固系の末期に存在する非常に重要な凝固因子である。フィブリンゲンは例えば損傷後の凝固系の活性化においてトロンビンによりその可溶性形態から止血及び創傷治療に主要な寄与をする不溶性のフィブリンに変換される。このような生理的な血液凝固機構の原理を利用した生理的組織接着剤が市販され、特に組織の接着・閉鎖特に縫合あるいは接合した組織から血液、体液または体内ガスの漏出をきたす場合に使用されている。

【0004】商業的に入手できる前記生理的組織接着剤としては、2成分接着剤がある。そのうち第一成分はフィブリンゲン、第XIII因子およびアブロチン含有し、そして第二成分はトロンビンおよびカルシウムイオン含有する。通常、第一成分及び第二成分を含む各溶液を接着・閉鎖部位に重層または混合して適用している。

【0005】この、生理的組織接着剤は外科系各領域で使用され、熱傷においてその有用性が報告されている（特開平1-99565公報）。この公報には、乾燥人

フィブリンゲンおよび局方トロンビン等からなるフィブリン糊が11度の熱傷に適用可能であり、熱傷面にフィブリン糊を塗布することにより熱傷創の上皮化が促進されることが記載されている。しかし、このフィブリン糊がサイトカインの産生を促進する作用を有することについては全く述べられていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】サイトカインは、全身あるいは局所に投与することによって、臨床的に数多くの治療効果が得られることが報告されている。一部のサイトカインは免疫療法剤あるいは造血剤として臨床上使用されている。しかし、サイトカインを生体組織や臓器から単離すること、あるいは遺伝子工学的に高純度で大量に生産するには多くの困難が伴う。また、サイトカインはその投与部位に存在するあるいは誘導される別のサイトカインと相互に作用し合うなどして、期待する臨床効果を得るに十分な濃度を維持できない問題が生じる。そこで、サイトカインの産生を促進および誘導し、また生体に安全に投与できる物質の探索が必要となる。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記課題に鑑みて鋭意研究を重ねた結果、本発明のサイトカイン産生促進剤を見出した。すなわち、上記目的は、

(1) フィブリンゲンおよびトロンビンおよび/またはトロンビン様活性化凝固因子から生成されるフィブリンからなるサイトカイン産生促進剤により達成される。好ましい実施態様として以下の(2)から(6)記載の態様を挙げることができる。

(2) サイトカインがTGF- α および/またはTGF- β である(1)記載のサイトカイン産生促進剤。

(3) (1)に記載のサイトカイン産生促進剤からなる全層皮膚欠損創治療剤。

(4) 皮膚・軟部組織の悪性腫瘍の切除によってできた全層皮膚欠損創に適用するための(3)に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

(5) 深部熱傷によってできた全層皮膚欠損創に適用するための(3)に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

(6) 外傷によってできた全層皮膚欠損創に適用するための(3)に記載の全層皮膚欠損創治療剤。

【0008】好ましい実施態様に記載された、サイトカインの一種である α トランスフォーミング増殖因子(TGF- α)は、ヒト上皮成長因子(EGF)と構造上、相同のアミノ酸配列をもち、EGFレセプターに結合する成長因子群に含まれる。このTGF- α の生物作用は各組織、細胞において多岐にわたる。TGF- α は、皮膚において、角化、上皮細胞の増殖作用を示す。 β トランスフォーミング増殖因子(TGF- β)は血小板に豊富に存在し、血小板から最初に純化されたが、その後さまざまな組織や臓器で作られていることが知られている。TGF- β を局所に投与すると、肉芽形成や血管新

生がみられ、組織の損傷修復が速やかに起こる。

【0009】本発明のサイトカイン産生促進剤は、例えば前述のTGF- α やTGF- α の産生を促進、誘導することができサイトカインの薬理効果を示す。他方、筋・腱・骨などの深部組織が露出した全層皮膚欠損創に対しては、一時的緊急創被覆を目的とした治療を行った上で各種の植皮術を追加している例が見られる。しかし、外界からの刺激や細菌の進入を防御したり、体液等の漏出を抑制して創面の環境を整える処置を施しているにもかかわらず、安定した植皮の生存を示さない、あるいは植皮後の拘縮が多いなどの問題が生じる。本発明のサイトカイン産生促進剤は、例えば前述の全層皮膚欠損創のような局所に投与しても創傷治癒効果を示す。

【0010】本発明のサイトカイン産生促進剤は、例えば、フィブリノゲンを含有する溶液に生理学的因子であるトロンピンを含有する溶液を作用させてフィブリンを生成させることにより得られる。この糊状の組成物を全層皮膚欠損創面あるいはメッシュ植皮した植皮面に塗布または噴霧して使用できる。また、前記両溶液を別々に創面に塗布または噴霧してもよい。より具体的には、本発明のサイトカイン産生促進剤は、特開昭56-152641号公報記載の装置によって欠損創面あるいは植皮面に適用可能であるが、フィブリノゲンがトロンピンまたはトロンピン様活性化凝固因子によって凝固反応が始まった直後に適用することが肝要である。また、創によっては、欠損創表面で凝固反応が始まるように各成分を別々に塗布あるいは噴霧してもよい。

【0011】前述のフィブリンへの変換は、フィブリノゲンに2価のカルシウムイオンの存在下でトロンピンまたはトロンピン様活性化凝固因子をフィブリノゲンに作用させることにより行われるが、トロンピン様活性化凝固因子としては、バトロキソピンが使用され得る。バトロキソピンはBothrops atrox蛇毒由来のセリンプロテアーゼで、分子量約36000の直鎖糖タンパクで、炭水化物の含量は約5%であり、N-末端アミノ酸はバリンで、その主要構成アミノ酸はアスパラギン酸である。バトロキソピンは、トロンピン様活性化凝固因子で、37℃で、標準ヒトクエン酸加血漿にバトロキソピン溶液を加えるとき、凝固させる活性を有する。

【0012】本発明のサイトカイン産生促進剤を生成する際には、所望によりフィブリノゲンにアプロチニンおよび人血液凝固第XII因子を加えてもよい。より具体的には、繊維タンパク質である人フィブリノゲンを含有する液に、トロンピンおよび塩化カルシウムを含む液を加えてフィブリノゲンをフィブリンに変換させる場合、50~150mq/ml、より好ましくは70~90mq/mlの人フィブリノゲンを含有した溶液1mlに対し、0.1~500単位、好ましくは200~400単位のトロンピンおよび1~50mq/mlの塩化カルシウムを溶解した2価のカルシウムイオンを有する溶液1mlを添加すること

により容易にフィブリンが得られる。本発明のサイトカイン産生促進剤を、例えば全層皮膚欠損創に適用する際の創面積当たりの使用量は、フィブリンの使用量として1mq/cm²~100mq/cm²、好ましくは5mq/cm²~50mq/cm²である。

【0013】フィブリノゲンからフィブリンを生成させる際に、血液凝固第XII因子および（または）アプロチニンを存在させることにより、フィブリンの物理的強度および生体内分解に対する抵抗性を強化することができ、サイトカイン産生の促進、誘導に好ましい。血液凝固第XII因子は、フィブリノリガーゼ、血漿トランスグルタミナーゼとも呼ばれ、物理的に強固なフィブリン形成にかかわるものであり、さらに α 2プラスミンインヒビターやフィブロネクチンをフィブリンと架橋結合させることで、生体内の線溶系酵素からフィブリンの生分解を防御し、サイトカインの産生、誘導に好ましい。アプロチニンは、例えばフィブリンを80mq/ml含有したものの1mlに対して20~2000カリクレイン不活化単位(KIE)、好ましくは500~1500KIEを添加する。本発明のサイトカイン産生促進剤として用いられるフィブリンを生成するためのフィブリノゲンとして、特公平6-94419号公報に記載されている低温殺菌された人フィブリノゲンが好適に使用される。

【0014】

【実施例】実験例

培地中の表皮細胞および線維芽細胞に対するフィブリン（フィブリノゲン製剤（商品名ペリプラスTP、ヘキスト・マリオン・ルセル社製より）の作用を調べるために、フィブリンを添加した培地とフィブリン無添加の培地について経時的にTGF- α およびTGF- β の値を測定した。その結果を図1および図2に示す。前記in vivoの試験により、TGF- α およびTGF- β はいずれもフィブリンを添加した培地の方が、フィブリンを添加しなかった培地にくらべて多く産生されていることが明らかである。

【0015】

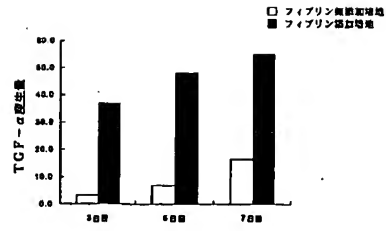
【発明の効果】フィブリンを創傷に適用することによりサイトカインの産生を促進し、全層皮膚欠損創を治療することができる。サイトカインの例としてTGF- α およびTGF- β があげられる。フィブリンに線溶阻止剤および/または第XII因子を追加的に含ませることにより全層皮膚欠損創の治療効果を高めることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】フィブリン添加培地とフィブリン無添加培地におけるTGF- α の産生量の相違を示すグラフである。

【図2】フィブリン添加培地とフィブリン無添加培地におけるTGF- β の産生量の相違を示すグラフである。

【図1】



【図2】

